

УДК 576.895.775; 576.858.27

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА
НА ПЕРЕЖИВАНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ
В БЛОХАХ *XENOPSYLLA GERBILLI MINAX*

В. С. Ващенок, Н. Ф. Тараканов

Ленинградская и Талды-Курганская противочумные станции

При гистологическом исследовании экспериментально зараженных блох *X. gerbilli minax* установлено, что на ранних этапах пищеварительного процесса, пока в их кишечнике сохранялись плотные сгустки непереваренной крови, происходило размножение возбудителя чумы. По мере разрушения пищевого комка оно сменялось отмиранием микробной популяции. После окончания пищеварительного процесса возобновлялось накапливание возбудителя. В период наибольшего снижения численности микробов они чаще всего отсутствовали в средней кишке и задних отделах пищеварительного тракта и при этом постоянно обнаруживались в преджелудке, а у некоторых особей, кроме того, в проксимальной части пищевода.

Наряду с обстоятельными сведениями о роли блох в сохранении и передаче возбудителя чумы, биологические взаимоотношения этих эктопаразитов с чумным микробом во многом остаются нераскрытыми. Недостаточно исследованы, в частности, морфо-физиологические факторы, определяющие особенности существования возбудителя в организме переносчика, и связанные с этим процессы накапливания бактерий, «блокообразования», освобождения эктопаразитов от инфекции и т. п.

В связи с приуроченностью чумных микробов к кишечному тракту блох особого внимания в этом отношении заслуживает пищеварительный процесс. Сведения о его влиянии на переживание возбудителя в переносчике очень ограничены. Известно, что скопления чумных микробов встречаются в различных отделах пищеварительного тракта зараженных эктопаразитов, а в качестве основных мест локализации инфекции рассматриваются средняя кишка и преджелудок (Голов, Иофф, 1925; Бычков, Борзенков, 1931; Бибикова, Классовский, 1974; Bacot, Martin, 1914; Douglas, Wheeler, 1943; Wheeler, Douglas, 1945, и др.). Вместе с тем имеются данные, полученные при гистологическом исследовании «блокированных» *Xenopsylla cheopis*, о разрушении этих бактерий в средней кише, которое происходит, по-видимому, под воздействием пищеварительных соков, и предполагается о преимущественном значении для сохранения возбудителя передних отделов кишечного тракта — преджелудка и проксимальной части пищевода (Ващенок с соавт., 1972). Особый интерес представляют исследования Щедрина (1972), показавшего, что численность чумных микробов как в средней кише, так и в преджелудке меняется в зависимости от стадии переваривания крови. Причем у одного из подопытных видов *X. cheopis* отмечено размножение бактерий в сгустках крови в начальном периоде переваривания, отмирание во время активного разрушения пищевого комка и возобновление накапливания микробной массы на II—V стадиях пищеварения. У другого, *Ctenophthalmus wladimiri*, после короткого периода размножения в начале пищеварения, пока сохранялся плотный пищевой комок, происходило прогрессивное уменьшение количества микробов на II—V стадиях.

В настоящем сообщении приводятся результаты гистологического исследования влияния пищеварительного процесса на переживание возбудителя чумы в блохах *Xenopsylla gerbilli minax* Jord.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использованы многоократно питавшиеся блохи *X. gerbilli minax* из инсектария Талды-Курганской противочумной станции. Перед опытом эктопаразиты в течение 3 дней выдерживались без прокормителя. Их заражение проводилось на гребенщиковой песчанке. Зверьку вводили подкожно эмульсию двухсуточной агаровой культуры чумного микробы (100 тыс. микробных клеток), и после наступления бактериемии, на третий сутки, когда в мазке крови обнаруживалось не менее 20 бактерий в поле зрения микроскопа, на него выпускали подопытных блох. Инфицирующее кормление длилось около 5 ч. Первичная зараженность эктопаразитов, по данным бактериологического исследования, составила 80 %. В дальнейшем насекомые были разделены на 2 партии, одна из которых содержалась при температуре 23—24°, другая — при 5—6°. Обе партии блох были один раз (на третий день после заражения) подкормлены в течение 5 ч на белой мышке. Эктопаразиты, содержащиеся при 22—24°, фиксировались для гистологического исследования сразу после заражения или подкормки через 2, 6, 12 и 24 ч и затем ежедневно, а находившиеся при 6° — первый раз спустя 12 ч, а затем через сутки. Общая продолжительность наблюдений для блох, содержавшихся при 22—24°, составила 13 дней, а для эктопаразитов, находившихся при 6°, — 20 дней.

Для заражения блох применялся высоковирулентный для лабораторных животных и типичный по культурным, морфологическим и биохимическим свойствам штамм чумного микробы (№ 815 по инвентарной книге музея живых культур Талды-Курганской противочумной станции), выделенный от большой песчанки в Южном Прибалхашье.

Блох фиксировали смесью Карнуга и из них приготавливали парафиновые срезы толщиной 4—6 мкм, которые окрашивали по Романовскому—Гимза с ацетоновой проводкой. Всего по гистологическим препаратам были исследованы 174 блохи (144 самки и 30 самцов), из которых возбудитель был обнаружен у 120.

РЕЗУЛЬТАТЫ НАБЛЮДЕНИЙ

Чумные микробы в экспериментально зараженных блохах отличались выраженным полиморфизмом. Помимо типичных для этого возбудителя палочек с закругленными краями и нередко биполярной окраской 1.5—2.2 мкм в длину и 0.5—1.0 мкм в ширину, встречались овоиды или правильные шарики с диаметром 1.0—1.7 мкм, а наиболее обычными были мелкие коккобактерии размером менее 1.0 мкм. Кроме того, изредка отмечались так называемые «кольцеобразные» формы с интенсивно окрашенным ободком и светлым неокрашенным центром.

Возбудитель обнаруживался только в кишечном тракте, где он с различным постоянством встречался на всем протяжении, начиная от пищевода и кончая ректальной ампулой. Из 120 исследованных блох, в организме которых было установлено по гистологическим препаратам наличие чумных микробов, последние у всех особей были обнаружены в преджелудке, у 84.5 % эктопаразитов они выявлены в средней кишке, у 63 % — в проксимальной части пищевода, у 56.8 % — в ректуме, и реже всего (28.6 %) возбудитель отмечался в тонкой кишке.

Обилие микробов, характер расположения по отношению друг к другу, форма и размеры их клеток в значительной степени зависели от сроков, прошедших после заражения и подкормки, температурных условий содержания подопытных эктопаразитов и местонахождения в кишечнике.

У блох, зафиксированных сразу же после заражающего кормления, которое, как уже отмечалось, продолжалось около 5 ч, содержавшаяся в кишечнике кровь уже успевала претерпеть изменения, характерные для

начального периода ее переваривания (Ващенок, 1967; Ващенок, Солина, 1969; Щедрин, Локтев, 1971; Ващенок с соавт., 1976). Содержимое средней кишки у всех особей было представлено плотным сгустком эритроцитов, в той или иной степени разрушенным по периферии, а преджелудок и проксимальная часть пищевода содержали гомогенную розовую зернистость, представляющую непереваренную сыворотку крови. В тонкой кишке отмечались лишь следы прилипшей к стенкам крови, а ректум чаще всего был пустым или заполненным избыtkом выведенной из средней кишки сыворотки с рассеянными в ней эритроцитами или их небольшими сгустками.

Чумные микробы в этот период обнаруживались во всех отделах кишечника, где имелась непереваренная кровь или ее компоненты. Они имели типичную для этого возбудителя форму палочек с закругленными концами, нередко окрашенных биполярно. У всех особей микробы отмечались в проксимальной части пищевода, в преджелудке, а также в средней кишке, в содержимом которой они образовали скучную, реже обильную, беспорядочную россыпь из отдельных микробов и коротких цепочек из 2—6 клеток (рис. 1). В задних отделах пищеварительного тракта присутствие возбудителя было очень непостоянным. В тонкой кишке немногочисленные микробы наблюдались лишь у отдельных особей. В ректуме, если он был заполнен, микробы могли быть столь же многочисленными, как и в средней кишке, или же отсутствовали, если в нем не было содержимого.

У блох (самок), находившихся при 22°, в течение 2 последующих часов наблюдалась сходная картина с той разницей, что численность микробов заметно возрастила. Они несколько увеличивались в размерах, россыпь бактерий становилась более густой, а цепочки удлинялись, включая в себя до 15—20 и более клеток (рис. 2 и 3). Процесс нарастания микробной популяции продолжался в течение всего периода, пока в кишечнике сохранялись плотные сгустки непереваренной крови, и у отдельных особей значительные скопления их отмечались через 12 ч после заражения.

По мере разрушения плотных сгустков эритроцитов и превращения содержимого кишечника в аморфную легко перемешивающуюся массу (II стадия) расположение микробов в виде цепочек постепенно утрачивалось, и они чаще встречались поодиночке и рыхлыми кучками (рис. 4). Размеры клеток несколько уменьшались и наряду с палочками появлялись овощные и шаровидные формы (рис. 5). С этого времени начинался процесс отмирания микробной популяции, который, однако, происходил с неодинаковой интенсивностью в разных отделах пищеварительного тракта. К концу II стадии и в начале III, когда содержимое кишечника переставало окрашиваться на гистологических препаратах в розовый цвет и было представлено желтыми или буроватыми массами гематина, возбудитель все реже обнаруживался в средней кишке, а также в задних отделах кишечника, и в то же время, если он вообще регистрировался, постоянно выявлялся в преджелудке и у некоторых особей, кроме того, в проксимальной части пищевода. Микробы в этот период принимали форму очень мелких палочек или коккобактерий. Они образовывали плотные небольшие скопления, располагавшиеся на внутренней стенке преджелудка у основания игл или на их боковой поверхности.

Блохи, у которых возбудитель обнаруживался в преджелудке и отсутствовал, судя по гистологическим препаратам, в средней кишке, начинали встречаться через 6 ч после заражающего кормления и составляли подавляющее большинство среди эктопаразитов, зафиксированных через 24 ч.

Со вторых суток возобновлялся процесс накапливания чумных микробов в кишечнике блох. Плотные сгустки микробов между иглами разрастались, постепенно заполняли полость преджелудка и кардиального клапана, вновь появлялись в средней кишке и начинали чаще встречаться в тонком кишечнике и в ректальной ампуле. Преобладающей формой возбудителя при этом оставались мелкие коккобактерии.

При подкормке зараженных эктопаразитов, которая, как уже отмечалось, проводилась в течение 5 ч на трети сутки, часть микробов из переднего и среднего отделов вымывалась в ректум и затем выводилась наружу. Однако отдельные микробы могли удерживаться в проксимальной части пищевода, значительные скопления их в виде плотных сгустков сохранялись между иглами в преджелудке (рис. 6), и плотные комочки разных размеров постоянно наблюдались в содержимом средней кишки (рис. 7). В первые часы после поступления в кишечник свежей крови микробы сохраняли шаровидную или оvoidную форму, а затем часть из них превращалась в палочки.

Так же, как и после заражающего кормления, на I стадии переваривания крови отмечалось размножение микробов. У блох, зафиксированных через 2, 6 и 12 ч после подкормки, наблюдались признаки отмирания возбудителя, причем у $1/3$ зараженных особей микробы не обнаруживались в средней кишке и в задних отделах пищеварительного тракта, но присутствовали в преджелудке. Они имели чаще всего форму шариков или оvoidов. В этот же период отмечены единичные «кольцеобразные» формы. Со вторых суток возбудитель выявлялся в средней кишке с такой же частотой, что и в преджелудке. К этому времени сгустки микробов, разрастаясь, особенно в задней его части и в кардиальном клапане, могли полностью закупоривать («блокировать») вход в среднюю кишку (рис. 8, 9). В средней кишке они вначале располагались обычно рыхлой россыпью, а затем также могли образовывать плотные сгустки. Они вновь принимали форму мелких коккобактерий (рис. 10), значительные скопления которых в дальнейшем наблюдались в кишечнике зараженных блох в течение всего 10-дневного периода содержания их без подкормки.

Изменения в микробной популяции у блох, содержащихся при 5—6°, имели такой же характер и сходную последовательность, но наступали позднее и в более растянутые сроки. У эктопаразитов, исследовавшихся после заражающего кормления, в течение первых суток наблюдалось увеличение количества микробов в кишечнике, на вторые сутки имело место явное сокращение их численности, причем возбудитель преимущественно обнаруживался в преджелудке. Начиная с 3-го дня возобновлялось накапливание возбудителя.

У блох, находившихся в тех же условиях после подкормки, фаза отмирания микробной популяции была более длительной. Особи с небольшим количеством возбудителя встречались со 2-го по 9-й день, и в течение всего этого периода отмечались отдельные экземпляры, у которых он был выявлен только в преджелудке. Начиная с 10-х суток после подкормки, у всех блох наблюдалось выраженное нарастание микробной массы.

Следует, кроме того, отметить, что у подопытных насекомых, содержащихся без подкормки при пониженной температуре, значительно медленнее менялась форма микробных клеток. Наряду с общей тенденцией постепенного превращения их в мелкие коккобактерии у некоторых особей они в предельные сроки наблюдений (17 дней) имели форму палочек (рис. 11).

Небольшое число исследованных самцов *X. gerbilli minax* не позволяет сделать определенных выводов относительно особенностей существования чумной инфекции в их организме. Судя по всему, у них также происходит сокращение численности возбудителя на II и в начале III стадии пищеварения и нарастание в более поздние сроки. Однако данных о преимущественном их сохранении в преджелудке по сравнению со средней кишкой не получено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Локализация возбудителя чумы в определенных частях пищеварительного тракта связана с воздействием на микробы среды со сложным физико-химическим режимом, неодинаковым в разных отделах кишечника и меняющимся в зависимости от его функционального состояния. Эти изменения, пока еще полностью не изученные, характеризуются цикличностью,

обусловленной ритмом питания насекомых, и выражаются, в частности, в различиях структуры, плотности и биохимическом составе пищевого содержимого на разных стадиях переваривания крови (Ващенок, 1967; Ващенок, Солина, 1969; Щедрин, Локтев, 1971; Faasch, 1935), а также неодинаковой кислотностью среды (Бибикова с соавт., 1964) и активностью ферментной системы (Мурзахметова, Терентьева, 1960; Щедрин, 1974; Cavanaugh, 1971). Создающиеся при этом условия, как показывают наблюдения, в значительной степени определяют закономерности существования чумных микробов в этих переносчиках.

При гистологическом исследовании экспериментально зараженных блох *X. gerbilli minax* было установлено, что общие закономерности изменения численности микробов в их организме имели сходный характер с тем, что ранее наблюдалось у *X. cheopis* (Щедрин, 1974; Щедрин с соавт., 1975). После поступления в кишечник свежей крови и образования плотного пищевого комка происходило размножение возбудителя, которое затем после разрушения сгустков эритроцитов сменялось отмиранием микробной популяции, а после окончания пищеварительного процесса возобновлялось накапливание возбудителя. Одновременно с изменениями численности микробов, обусловленными функциональным состоянием кишечника, менялась также их морфология. На начальной стадии пищеварения, пока сохранялись плотные сгустки непереваренной крови, преобладали типичные для этого возбудителя палочки. По мере распада пищевого комка они замещались оvoidными и шаровидными формами, а после завершения пищеварительного цикла микробная масса была представлена мелкими коккобактериями. Подобная же последовательность изменений морфологии чумных микробов отмечена при заражении и других видов блох (Бейер с соавт., 1974; Щедрин, 1974), а различия заключались главным образом в сроках их наступления.

Важно отметить, что отмирание микробной популяции, наблюдавшееся в блохах *X. gerbilli minax* на II и в начале III стадии переваривания крови, происходило с неодинаковой интенсивностью в разных отделах кишечника. В этот критический период для переживания возбудителя чумы в организме переносчика бактерии у значительного числа зараженных эктопаразитов отсутствовали, судя по гистологическим препаратам, в средней кишке и задних отделах пищеварительного тракта, а наиболее благоприятными для их сохранения были условия в преджелудке и прилегающей к нему части пищевода.

Л и т е р а т у р а

Б е й е р А. П., А к и е в А. К., С у в о р о в а А. Е. 1974. Морфология вирулентного чумного микробы в организме блох *Xenopsylla cheopis*. Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 6 (40) : 60—63.

Б и б и к о в а В. А., К л а с с о в с к и й Л. Н. 1974. Передача чумы блохами. «Медицина», М. : 3—188.

Б и б и к о в а В. А., М у р з а х м е т о в а К., Т е р е н т ъ е в а Л. И. 1964. К определению рН желудочно-кишечного тракта блох (предварительное сообщение). В сб.: Природная очаговость болезней и вопросы паразитологии, 4; Фрунзе: 229—231.

Б ы ч к о в В. А., Б о р з е н к о в А. К. 1931. О видимых изменениях в желудочно-кишечном тракте блох под влиянием пребывания в нем чумной палочки. Паразитол. сб. Зоол. музея, II : 135—149.

В а щ е н о к В. С. 1967. Гонотрофические отношения у блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn. (Aphaniptera, Ceratophyllidae). Паразитол. сб. ЗИН АН СССР, 23 : 222—235.

В а щ е н о к В. С., Г о н ч а р о в А. И., Е л к и н Ю. М., О с и п о в а С. П. 1972. Опыт гистологического исследования блох *Xenopsylla cheopis*, блокированных чумным микробом. Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 4 (26) : 157—158.

В а щ е н о к В. С., С о л и н а Л. Т. 1969. О пищеварении у блох *Xenopsylla cheopis* Roths (Aphaniptera, Pulicidae). Паразитолог., 3 (5) : 451—460.

В а щ е н о к В. С., С о л и н а Л. Т., Ж и р н о в А. Е. 1976. Особенности переваривания крови разных животных блохами *Xenopsylla cheopis*. Паразитолог. 10 (6) : 544—549.

М у р з а х м е т о в а К., Т е р е н т ъ е в а Л. И. 1963. К методике определения ферментов у блох. Матер. научн. конф. по природной очаговости и профилактике чумы. Алма-Ата : 157—158.

Щедрин В. И. 1974. Морфологические и гистохимические данные по перевариванию крови у некоторых видов блох — переносчиков чумы. Автореф. канд. дисс. Саратов: 3—26.

Щедрин В. И., Бейер А. П., Локтев Н. А., Акиев А. К. 1975. Морфологическое и гистохимическое исследование блох *X. cheopis Roths.*, зараженных чумными микробами. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1 : 86—89.

Щедрин В. И., Локтев Н. А. 1971. Морфологические изменения пищевого комка у блох *X. cheopis Roths.* Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 6 (22) : 97—103.

Bacot A. W., Martip C. J. 1914. Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas. Journ. Hyg. Plague Suppl. 3 : 423—429.

Caravanagh D. C. 1971. Specific effect of temperature upon transmission of the plague bacillus by the oriental rat flea, *Xenopsylla cheopis*. Am. Journ. Trop. Med., 20 (2) : 264—273.

Douglas J. R., Wheeler C. M. 1843. Sylvatic plague studies. II. The fate of *Pasteurella pestis* in the flea. Journ. Inf. Dis., 72 (1) : 19—30.

Wheeler C. M., Douglas J. R. 1945. Sylvatic plague studies. V. The determination of vector efficiency. Journ. Inf. Dis., 77 (1) : 1—12.

Faasch W. J. 1935. Darmkanal und Blutverdauung bei Aphanipteren. Z. Morph. Ökol. Tiere, 29 (4) : 559—584.

THE INFLUENCE OF DIGESTION
ON THE SURVIVAL OF THE PLAGUE AGENT
IN THE FLEA *XENOPSYLLA GERBILLI MINAX*

V. S. Vashchenok, N. F. Tarakanov

S U M M A R Y

Histological investigations of experimentally infected *X. gerbilli minax* have shown that at the early stages of the digestion, while in the intestine compact clots of non-digested blood, are preserved, proceeds the reproduction of the plague agent. With the decay of the alimentary clot it changes into the dying off of the microbe population and after the ceasing of digestion the accumulation of bacteria renews again. Simultaneously with the changes in the number of microbes their morphology varies. At the initial stage of blood digestion bacilli typical for the agent are dominant. With the decay of the alimentary clot they are replaced by ovoid and spheroid forms. After the ceasing of the digestion cycle the microbe mass is represented by small coccobacteria. During the decrease in the plague agent abundance bacteria are absent mostly often from the midgut and posterior parts of the alimentary canal. Most favourable conditions for their preservation exist in this period in the proventriculus and in adjoining to it oesophagus part.

36

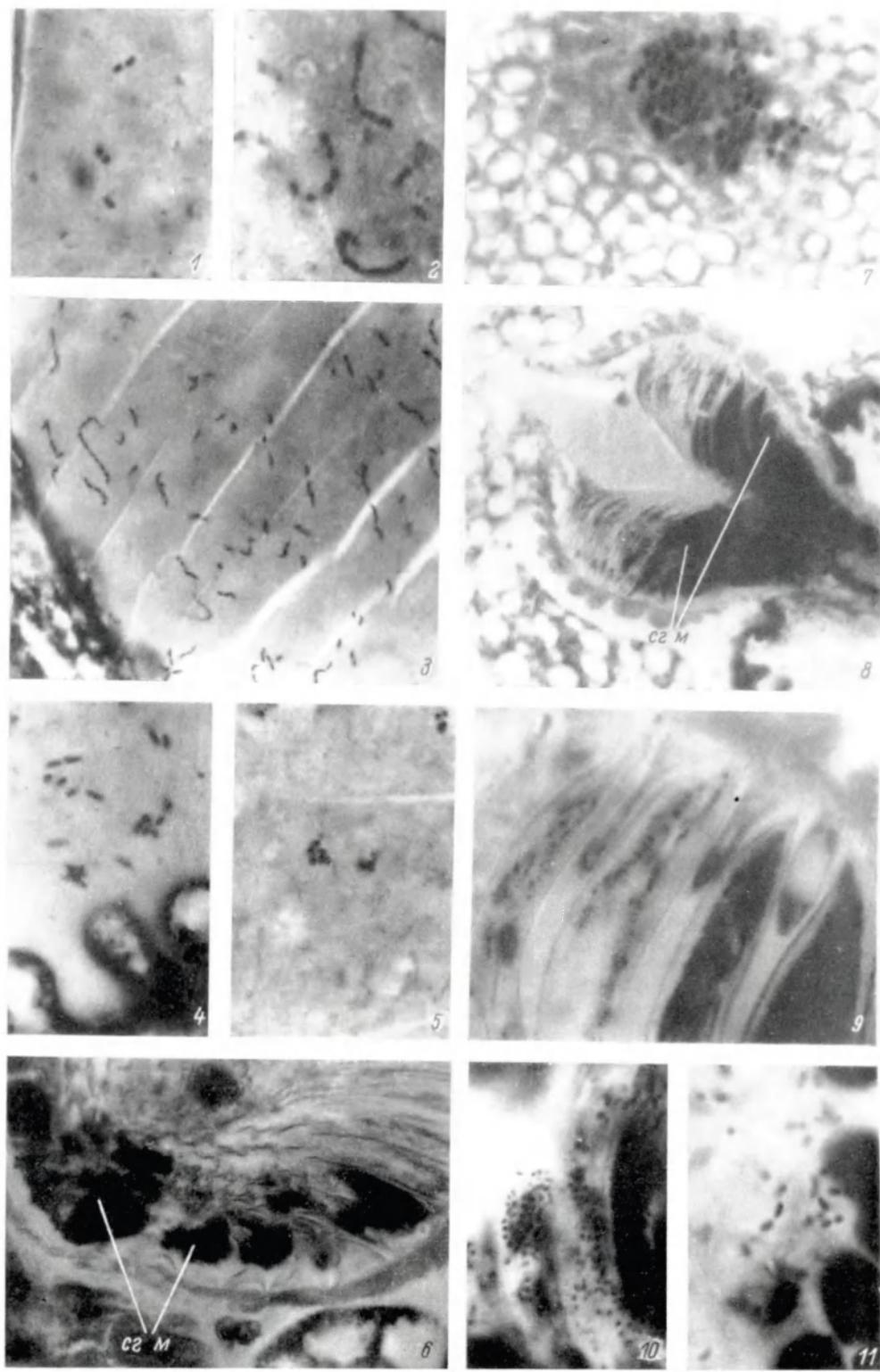


Рис. 1—11. Чумные микробы в кишечнике экспериментально зараженных блох *Xenopsylla gerbilli minax*.

1 — чумные микробы в содержимом средней кишки блохи, зафиксированной вскоре после окончания заражающего кормления; 2, 3 — то же через 2 ч; 4 — то же через 6 ч; 5 — шаровидные формы микробов в содержимом средней кишки (6 ч после заражающего кормления); 6 — сгустки чумных микробов в преджелудке (сразу после заражающего кормления); 7 — то же в средней кишке; 8 — преджелудок, «блокированный» размножившимися чумными микробами; 9 — то же (фрагмент); 10 — мелкие коккобактерии в преджелудке (10-е сутки после подкормки, при 22°); 11 — палочковидные формы в средней кишке (17-е сутки после подкормки, при 5—6°). 1, 2, 4, 5, 7, 9, 10, 11 — об. 90×; 3, 6 — об. 40×; 8 — об. 20×; сг м — сгустки микробов.